



El agua subterránea como agente transmisor de protozoos intestinales

DRES. MARÍA C. LURA¹, DANIEL BELTRAMINO², BEATRIZ ABRAMOVICH³, ELENA CARRERA⁴, MIGUEL A. HAYE³, LILIANA CONTINI⁴

Resumen

Introducción: el objetivo del presente trabajo fue establecer si había asociación entre el consumo de agua obtenida de fuentes subterráneas, sólo desinfectada con cloro, y la presencia de protozoos intestinales en una población pediátrica.

Población: se estudiaron cuatro grupos de niños, de cuatro meses a doce años de edad, que compartían similares condiciones socioeconómicas y sanitarias. Los grupos A (n= 34), B (n= 36) y C (n= 45), consumían agua de red proveniente de fuentes subterráneas, sólo tratada con cloro antes de ser distribuida. El grupo control, D (n= 34), consumía agua de fuente superficial con tratamiento de potabilización convencional completo.

Material y método: en cada grupo se analizó el agua, desde el punto de vista fisicoquímico, bacteriológico y parasitológico y se realizaron cultivos coproparasitológicos seriados a los niños seleccionados. Se realizó, además, una encuesta a los padres.

Resultados: se comprobó contaminación bacteriológica y parasitológica en algunas de las perforaciones que abastecían a los grupos de población A, B y C. Se detectaron quistes u ooquistes de protozoos en los tanques B y C. Los porcentajes de estudios coproparasitológicos positivos en los niños residentes en cada grupo fueron: A, 47%; B, 41%; C, 67% y D, 12%. Se obtuvieron diferencias significativas entre A-D ($p= 0,0039$; OR 5,16 [1,43-19,65]), B-D ($p= 0,012$; OR 4,14 [1,16-15,62]) y C-D ($p < 10^{-5}$; OR 11,60 [3,35-42,88]). Según los resultados de la encuesta, los cuatro grupos compartían condiciones socioeconómico y sanitarias similares.

Conclusiones: en las muestras estudiadas, las diferencias relativas existentes entre el grupo control y el resto de los grupos estudiados permitirían inferir que existe un alto riesgo de infección con protozoos intestinales cuando se consume agua contaminada de origen subterráneo que sólo fue clorada antes de su distribución.

Palabras clave: CONTAMINACIÓN DE AGUAS SUBTERRÁNEAS
PARASITOSIS INTENTINALES

1. Sección Microbiología, Hospital J.B. Iturraspe, Santa Fe. Cátedra de Microbiología General, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL.

2. Servicio de Pediatría, Hospital J.B. Iturraspe.

3. Sección Aguas, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL.

4. Departamento de Matemática, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL.

Este proyecto de investigación fue financiado con subsidios otorgados por la Universidad Nacional del Litoral (CAI+D 93-94) y el Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe.

Resumen

Introdução: o objetivo do presente trabalho foi estabelecer se existia associação entre o consumo de água obtida de fontes subterrâneas só desinfetadas com cloro e a presença de protozoos intestinais numa população pediátrica.

População: estudaram-se quatro grupos de crianças, de quatro meses a doze anos de idade que tinham semelhantes condições socio-econômicas e sanitarias. Os grupos A(n=34), B(n=36) y C(n=45); consumiam água de fonte subterrânea somente tratada com cloro antes de ser distribuída. O grupo controle D (n=34), consumia água de fonte superficial com tratamento de potabilização convencional completo.

Material e método: em cada grupo avaliou-se a água, desde o ponto de vista físico-químico, bacteriológico e parasitológico, também realizaram-se cultivos coproparasitários seriados às crianças selecionadas e um questionário foi apresentado aos pais.

Resultados: verificou-se contaminação bacteriológica e parasitológica em algumas das perforações que abasteciam aos grupos de população A, B, e C. Constataram quistos ou ooquistos de protozoos nos tanques B e C. As percentagens de estudos coproparasitológicos positivos nas crianças residentes em cada grupo foram: A, 47%; B, 41%; C, 67% e D, 12%. Obtiveram-se diferenças significativas entre A-D ($p=0,0039$; OR 5,16 [1,43-19,65]); B-D ($p=0,012$; OR 4,14 [1,16-15,62] e C-D ($p < 10^{-5}$; OR 11,60 [3,35-42,38]).

Conforme os resultados do questionário, os quatro grupos compartilhavam condições socio-econômicas-sanitárias semelhantes.

Conclusões: nas amostras estudadas, as diferenças relativas existentes entre o grupo controle e o restante dos grupos estudados permitiriam inferir que existe um alto risco de infecção com protozoos intestinais quando se consome água contaminada de origem subterrânea que somente foi tratada com cloro antes de sua distribuição.

Palabras chave: POLUIÇÃO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS
ENTEROPATIAS PARASITÁRIAS

Introducción

Las infecciones intestinales por protozoos constituyen una de las causas más frecuentes de enfermedad entre los seres humanos, a nivel mundial ⁽¹⁾. Tres de ellos se destacan como productores de diarrea aguda en pacientes inmunocompetentes, *Giardia lamblia* (*intestinalis*), *Cryptosporidium parvum* y *Entamoeba histolytica*, pero existe un número aún mayor de pacientes que son portadores asintomáticos ⁽¹⁻⁵⁾.

En la República Argentina se desconoce la prevalencia que tienen los distintos protozoos intestinales en la población general porque la mayoría de los datos con los que se cuenta provienen de pacientes que consultaron, de manera espontánea, en diferentes centros hospitalarios; a pesar de ello, se presume que *G. lamblia* es el protozoo más frecuentemente diagnosticado en todo el país ^(6,7).

Varios estudios fueron realizados en la región centro-norte de la provincia de Santa Fe; algunos de ellos llaman la atención sobre la prevalencia que los protozoos tienen en una determinada ciudad o en sectores de la misma, mientras que otros informan sobre el aumento de cuadros sintomáticos producidos por algún protozoo en particular ⁽⁸⁻¹²⁾.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) aconseja realizar estudios para determinar la importancia relativa de las distintas vías de transmisión cuando en algunas áreas la infección por protozoos es endémica ^(13,14). Son tres las vías reconocidas, siguiendo la ruta fecal oral: a través del agua, los alimentos y por contacto de persona a persona. Las materias fecales humanas o de animales son las fuentes de contaminación ^(3,15-17).

La importancia de la vía hídrica ha sido documentada fehacientemente a través de numerosos trabajos que estudiaron brotes de diarrea aguda causados por *G. lamblia* y *Cryptosporidium* ⁽¹⁸⁻²⁷⁾ y, con menor frecuencia, con algunos estudios sobre *E. histolytica* y *Balantidium coli* ^(28,29). Sin embargo, no resulta fácil valorar esta vía como agente transmisor en una comunidad ubicada en un área endémica, debido a que pueden presentarse casos esporádicos de infección originados por contaminación, a veces intermitente, de las fuentes proveedoras de agua o de los sistemas de distribución, sin que necesariamente sean reconocidos como brotes de origen hídrico ⁽¹⁴⁾.

Los quistes de protozoos tienen tres características que les permiten transformarse en importantes agentes causales de enfermedades transmitidas por el agua: son estables en el medio ambiente, efectivos aun en bajas dosis infecciosas y no son destruidos por el cloro en las concentraciones usadas para la potabilización del agua de bebida ⁽³⁰⁻³²⁾. Su detección en el agua potable no se realiza en forma rutinaria debido a que los métodos utilizados para el diagnóstico son engorrosos, de elevado

costo e insumen mucho tiempo por parte de los operadores⁽³³⁾.

En nuestro país es muy frecuente el uso de agua potable proveniente de fuentes subterráneas, la que es distribuida para el consumo luego de haber recibido cloración como único tratamiento; un buen ejemplo de ello lo constituye la región centro-norte de la provincia de Santa Fe, donde la mayoría de la población que la habita recibe este tipo de agua⁽³⁴⁻³⁸⁾.

El objetivo del presente trabajo fue establecer si había asociación entre el consumo de agua obtenida de fuentes subterráneas, sólo desinfectada con cloro antes de ser utilizada y la presencia de protozoos intestinales en una población pediátrica.

Población

La población estudiada estaba integrada por los niños de ambos sexos que residían en tres ciudades de la región centro-norte de la provincia de Santa Fe, de 400.000, 30.000 y 18.000 habitantes cada una, geográficamente alejadas entre sí. El rango etario estaba comprendido entre cuatro meses y 11 años, 11 meses y 29 días de edad. Teniendo en cuenta el carácter endémico de las parasitosis intestinales en la región elegida y con el objeto de descartar brotes estacionales⁽³⁹⁾, el estudio fue realizado durante el período comprendido entre el 1° de abril y el 30 de setiembre de 1995.

Se incluyeron niños que compartían similares condiciones socioeconómicas y sanitarias, que habitaban en viviendas de material, consumían agua de red y cuyas familias residían en ese grupo de población desde hacía por lo menos tres años.

Se excluyeron los niños que habían padecido cuadros de diarrea aguda durante el mes previo al estudio o los que, hasta 90 días antes, hubieran recibido tratamientos antiparasitarios. También fueron excluidos los niños que habitaban viviendas ubicadas a una distancia menor de 50 metros de terrenos donde se criaran animales de granja.

Se eliminaron del estudio aquellos niños cuyos padres no respetaron la indicación de recolectar materia fecal durante siete días o no respondieron una encuesta estructurada.

Selección de la muestra

Se solicitó al Instituto Provincial de Estadísticas y Censos (IPEC) que identificara un estrato de habitantes que fuera similar en las tres ciudades que se deseaba estudiar, tomando como base los datos del último Censo Nacional (1991) y utilizando las siguientes variables: vivienda particular unifamiliar, con paredes, pisos y techo de material, baño instalado, agua de red intradomi-

ciliaria, similar promedio de ingresos y, como mínimo, nivel de instrucción primario completo en el jefe de la familia.

Para realizar la estratificación, el IPEC utilizó un análisis multivariado que tuvo en cuenta las variables descriptas anteriormente. Se seleccionaron cuatro grupos de población, denominados A, B, C y D. Los niños residentes en los grupos A, B y C consumían agua de red proveniente de fuentes subterráneas, sólo tratada con cloro antes de ser distribuida; los niños residentes en el grupo D, que se consideró como grupo control, eran provistos con agua de fuente superficial que recibía tratamiento de potabilización convencional completo (floculación, sedimentación, filtración y cloración).

Los grupos de población A y D se ubicaron en la ciudad de 400.000 habitantes. En ésta, aproximadamente 75% de sus habitantes eran provistos de agua potable proveniente de fuentes subterráneas (almacenada en tanques comunitarios) o de fuente superficial. Para conformar el grupo A, se eligió un tanque que servía a 3.600 pobladores y el grupo D fue elegido, por sorteo, entre los barrios que por sus características pertenecían al mismo estrato y que eran abastecidos por agua de origen superficial.

Los grupos B y C fueron ubicados en las ciudades de 30.000 y 18.000 habitantes respectivamente, provistas exclusivamente de agua proveniente de fuentes subterráneas. Para el grupo B, se eligió un tanque que servía a 4.000 pobladores y coincidía con el estrato deseado. El grupo C era abastecido por un único tanque de distribución.

Dentro de cada grupo de población se numeraron las manzanas y, utilizando una tabla de números aleatorios, se seleccionaron aquellas en las cuales serían visitadas las viviendas. Las manzanas comenzaron a recorrerse por la esquina N.O. en sentido contrario a las agujas del reloj. Se estudió a un niño por cada vivienda visitada. Si en la misma casa vivían varios niños, se seleccionó a aquel cuya edad estuviera más cercana a los cinco años. Si esto no era posible, se optó por el más cercano a la edad establecida. Cuando no se encontró a ningún niño elegible en la manzana visitada, se pasó a la próxima siguiendo en dirección oeste.

Ante la ausencia de datos previos, el tamaño de la muestra se calculó de manera de lograr que el error a cometer, para cada grupo de población, fuera menor al 10%, suponiendo para su cálculo la situación más desfavorable, que era la de esperar un porcentaje de exámenes coproparasitológicos positivos del 50%^(40,41).

Para cumplir con ese objetivo era necesaria una muestra donde n fuera igual a 120, o sea, $n=30$ para cada grupo de población, pero como se esperaba un incumplimiento en la recuperación cercano al 20% se fijó un

n=40. En el grupo C, ante el elevado número de niños en los que fueron identificados protozoos intestinales cuando se procesaron las primeras muestras, se decidió aumentar a n=50.

Reparos éticos

Antes del ingreso de cada niño al estudio se solicitó a los padres o adultos responsables la autorización para incluirlo en el mismo.

Material y método

Estudio del agua de bebida

El agua que abastecía a cada grupo de población fue estudiada desde el punto de vista fisicoquímico, bacteriológico y parasitológico.

En los grupos A, B y C la captación del agua subterránea se realizaba a través de baterías de pozos (dos en A, 11 en B y 14 en C). La profundidad de las perforaciones era de aproximadamente 28-30 metros. El agua obtenida se almacenaba en tanques y, antes de su liberación a la red de distribución, se sometía a tratamiento de desinfección mediante la adición de cloro, para lograr una concentración final de 0,5-1 mg/l.

Se tomaron muestras de agua de los tanques de distribución y de todas las perforaciones que los abastecían.

Cada tanque fue identificado por la letra correspondiente al grupo de población al que proveía y las perforaciones, identificadas y numeradas. Así, por ejemplo, en el grupo A: tanque de distribución, TA y perforaciones, PA1 y PA2.

También se tomaron muestras de la red de distribución de agua potable del grupo D.

Examen fisicoquímico y bacteriológico

Cada una de las muestras fue procesada siguiendo la metodología propuesta en Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater⁽⁴²⁾.

Las determinaciones fisicoquímicas que se llevaron a cabo fueron: pH, conductividad, temperatura, residuos sólidos, alcalinidad total, cloruros, sulfatos, dureza total, oxidabilidad, amoníaco, nitritos y nitratos.

En muestras de agua provenientes de los tanques de almacenamiento, tomadas en los primeros tramos de la red de distribución, se determinó el contenido de cloro residual libre y total.

El examen bacteriológico se llevó a cabo mediante el recuento de heterótrofos en placa (bacterias mesófilas aeróbicas) (unidades formadoras de colonias/ml, UFC/ml) y se determinaron las bacterias coliformes totales y coliformes termorresistentes (termotolerantes) mediante la técnica de fermentación en tubos múltiples,

expresando los resultados como número más probable/100 ml (NMP/100 ml).

Como norma para evaluar la calidad bacteriológica del agua investigada se tomó en cuenta lo recomendado por:

- las guías para la calidad del agua potable de la OMS⁽⁴³⁾, que expresan: “*E. coli* o bacterias coliformes termorresistentes, no deben ser detectables en ninguna muestra de 100 ml”;
- la Ley 11.220 (30/11/94) de la provincia de Santa Fe, que fija como límite obligatorio: “Bacterias aeróbicas hasta 100 UFC/ml; coliformes totales < 2,2 NMP/100 ml; coliformes fecales < 2,2 NMP/100 ml”.

Estudio parasitológico del agua

Se llevaron a cabo exámenes parasitológicos en las muestras de aguas provenientes de todos los tanques de almacenamiento y de las redes de distribución. En cambio, sólo fueron investigadas las muestras de agua de las perforaciones que presentaron índices de contaminación a través de la medición de sus parámetros bacteriológicos.

Las muestras fueron recolectadas y procesadas de acuerdo a lo descripto por Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater⁽⁴²⁾, Feldman y colaboradores⁽³¹⁾ y Abramovich y colaboradores⁽²⁷⁾, llevándose a cabo de la siguiente manera:

Se filtraron alrededor de 4.000 litros de agua provenientes de perforaciones y tanques comunitarios de cada uno de los grupos de población A, B y C y de la red de distribución de agua potable del grupo D, a través de filtros de hilo de polipropileno tejido, con una porosidad nominal de 1 micrómetro (Cuno Micro Wynd D-PPPY) y un flujo de 15-20 litros por minuto. Finalizada la filtración, cada uno de los filtros fue remitido al laboratorio, en doble bolsa de polietileno y refrigerados con hielo húmedo. Dentro de las 48 horas siguientes y trabajando de manera aséptica, se desmenuzaron minuciosamente, lavando cada porción obtenida con una solución de Tween 80 al 0,2% (sustancia tensoactiva caotrópica, que interrumpe las interacciones hidrofóbicas que constituyen un importante factor de adhesión de los quistes a las fibras del filtro, facilitando su atrapamiento físico). Todo el líquido de lavado (2 litros), se centrifugó a 3.000 rpm, durante 10 minutos, descartándose el sobrenadante. Los sedimentos fueron resuspendidos en 1 ml de formaldehído al 3,7%.

La búsqueda de los parásitos se realizó mediante exámenes microscópicos directos en fresco, utilizando lugol, coloraciones vitales (colorante de Taranto)⁴⁴ y co-

loraciones permanentes y diferenciales (trícromica, Ziehl Nielsen y Kinyoun).

Todas las muestras fueron concentradas usando las técnicas de flotación con sulfato de cinc y con la solución de Sheather, habiéndose procedido a su estudio del mismo modo que con los exámenes directos.

Los exámenes realizados fueron evaluados desde el punto de vista cualitativo, habiéndose consignado presencia o ausencia de parásitos.

Como norma para evaluar la calidad parasitológica del agua investigada se tomó en cuenta lo recomendado por:

- las guías para la calidad del agua potable de la OMS⁽⁴³⁾ que expresan: “Ningún protozoo o helminto patógeno debe ser detectado en el agua de bebida”;
- la Ley 11.220 (30/11/94) de la provincia de Santa Fe, que fija como límite obligatorio ausencia de *Giardia lamblia* y de *Cryptosporidium*.

Estudio de los protozoos intestinales en los niños

Se estudiaron muestras de materia fecal obtenidas durante siete días en solución de formaldehído al 3,7%. Cada muestra se concentró mediante la técnica de acetato de etilo-formaldehído. Posteriormente se realizaron los exámenes parasitológicos utilizando las técnicas descriptas para la búsqueda en agua.

Los exámenes realizados fueron evaluados desde el punto de vista cualitativo, habiéndose consignado presencia o ausencia de parásitos.

Para corroborar en terreno la homogeneidad del estrato identificado por el IPEC y la fuente de provisión del agua de red, se realizó una encuesta estructurada.

Se consignaron los datos del niño elegido y se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos: 1) tipo de trabajo de los padres; 2) ingresos mensuales totales de la familia; 3) características de la vivienda; 4) tipo de baño e instalaciones sanitarias; 5) presencia de animales domésticos; 6) eliminación de residuos; 7) tratamiento del agua de bebida.

Análisis estadístico

Se compararon desde el punto de vista parasitológico los niños residentes en los grupos A, B y C versus los del grupo D (control).

Se planificó como un estudio de casos y controles y se realizó estadística descriptiva e inferencial. En la primera, los resultados se expresan como número de muestras con hallazgo positivo/número total de muestras y su porcentaje correspondiente; mientras que en la estadística inferencial, a través del uso del chi cuadrado, se determinó la significación estadística en la diferencia de propor-

ciones y dependencia estadística, calculando en todos los casos, el p exacto asociado.

El análisis de la edad de los niños que formaron parte del estudio se realizó mediante el uso de intervalos de confianza, ya que por su facilidad de lectura, se consideró como la forma más adecuada para comparar los grupos entre sí. Además permitió reflejar los valores de las muestras en términos de su tamaño y desvío estándar, como una dirección de la incertidumbre o medida del error^(40,41).

Para estimar la potencia de la asociación entre los factores estudiados se tomó en cuenta el odds ratio (OR)⁽³⁹⁾, como un estimador del riesgo relativo. Los intervalos de confianza para el OR se obtuvieron siguiendo los criterios dados en el manual de SPSS que coincide con las modificaciones de Fleiss⁽⁴⁵⁾. Se ha elegido esta medida de asociación por considerarla la más adecuada para el estudio de comparación^(39,46-49). Todos los cálculos estadísticos se realizaron con el software SPSS (versión 6.0 para Windows).

Resultados

Luego de aplicados los criterios de eliminación, las muestras con las que se trabajó en cada grupo de población fueron las siguientes: A, n=34; B, n=36; C, n=45 y D, n=34.

Las medias (\bar{X}) y medianas (Mn), con intervalos de confianza del 95%, de las edades de los niños estudiados en meses, fueron las siguientes: A, \bar{X} : 59,78; Mn: 60,0 (46,95-72,97); B, \bar{X} : 73,47; Mn: 72,0 (60,62-86,32); C, \bar{X} : 57,60; Mn: 55,0 (40,08-68,13) y D, \bar{X} : 60,25; Mn: 60,0 (47,01-72,99).

Estudio del agua

Los resultados de los exámenes fisicoquímicos de todas las muestras estudiadas estuvieron dentro del rango de los valores considerados normales.

En los tanques TA, TB y TC se encontraron cifras similares de cloro libre (1,5 mg/l) y cloro total (2 mg/l).

Los resultados de los estudios bacteriológicos y parasitológicos, realizados en las muestras provenientes de la red de distribución de agua potable, en el grupo D, mostraron ausencia de parámetros bacteriológicos y parasitológicos que indicaran contaminación.

En el grupo A, una de las dos perforaciones estudiadas estaba contaminada con bacterias y protozoos; en el B, 4 de 11 y en el C, 1 de 14 (tabla 1).

Ninguno de los tanques de almacenamiento presentaba parámetros que indicaran contaminación bacteriológica. En los correspondientes a los grupos B y C se detectó contaminación parasitológica (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de los estudios bacteriológicos y parasitológicos de las muestras de agua subterránea provenientes de los tanques de distribución (T) y de las perforaciones que los abastecían (P)*, en los grupos A, B y C

| Grupos coliformes de población | Coliformes termorresistentes (NMP/100 ml) | Heterótrofos totales(NMP/100 ml) | Quistes y ooquistes | |
|--------------------------------|---|----------------------------------|---------------------|---|
| | | | totales (ufc/ ml) | de protozoos (presencia/ausencia) |
| Grupo A | | | | |
| PA 2 | 2,2 | 38 | 45 | <i>Cryptosporidium spp</i> |
| TA | ausencia | ausencia | <10 | ausencia |
| Grupo B | | | | |
| PB 5 | 8,2 | 240 | >10 ⁴ | <i>E. histolytica-E. dispar</i> # |
| PB 7 | ausencia | 240 | 800 | ausencia |
| PB 10 | 240 | >240 | >10 ⁶ | <i>E. histolytica-E. dispar</i> , <i>E. coli</i> |
| PB 11 | 5 | 240 | 700 | ausencia |
| TB | ausencia | ausencia | <10 | <i>E. histolytica-E. dispar</i> , <i>E. coli</i> |
| Grupo C | | | | |
| PC 5 | 2,2 | 240 | 280 | <i>Giardia lamblia</i> |
| TC | ausencia | ausencia | <10 | <i>Giardia lamblia</i> |

La identificación microscópica no permite diferenciar entre *E. histolytica* y *E. Dispar*. Sólo se consignan las perforaciones con resultados positivos para bacterias y/o protozoos.

Tabla 2. Distribución de protozoos intestinales identificados en los coproparasitológicos

| Tipo de protozoo | Grupos de población | | | |
|--------------------------------|---------------------|-----------|-----------|-----------|
| | A (n= 34) | B (n= 36) | C (n= 45) | D (n= 34) |
| <i>Cryptosporidium spp</i> | 7 (21%) | 0 | 0 | 0 |
| <i>Giardia lamblia</i> | 8 (23%) | 6 (17%) | 27 (60%) | 4 (12%) |
| <i>E. histolytica-E.dispar</i> | 5 (15%) | 2 (6%) | 11 (24%) | 0 |
| <i>Entamoeba coli</i> | 5 (15%) | 4 (11%) | 1 (2%) | 0 |
| Otros protozoos* | 0 | 9 (24%) | 0 | 0 |

* *Chilomastix mesnilli*, *Endolimax nana* y *Blastocystis hominis*.

Determinación de protozoos intestinales en los niños

El número de muestras de materia fecal positivas para protozoos intestinales y sus porcentajes en los niños residentes en cada grupo de población fueron los siguientes: A, 16 (47%); B, 15 (41%); C, 30 (67%) y D, 4 (12%). Los diferentes tipos de protozoos identificados son informados a través de la tabla 2.

Con el objeto de controlar si al menos uno de los grupos de niños parasitados era distinto de los demás, se utilizó una prueba de X² que permitió confirmar que existían diferencias altamente significativas entre ellos ($p < 10^{-5}$). En base a este hecho y como era evidente la menor proporción de parasitados en el grupo D, abastecido con agua de fuente superficial, se realizó la comparación entre este grupo y cada uno de los restantes, provistos de agua subterránea. Se comprobaron diferencias

significativas entre B-D ($p=0,012$) y altamente significativas entre A-D ($p=0,0039$) y C-D ($p=4,2 \times 10^{-6}$).

Las diferencias relativas (odds ratio) con intervalos de confianza del 95%, correspondientes a las comparaciones realizadas fueron las siguientes: A-D, 5,16 (1,43; 19,65); B-D, 4,14 (1,16; 15,62) y C-D, 11,60 (3,35; 42,88).

Encuesta estructurada

Utilizando la prueba de X^2 no se encontraron diferencias significativas respecto del tipo de vivienda empleado por los diferentes grupos. Tampoco se hallaron en relación con las características de los baños, las instalaciones sanitarias, la eliminación de residuos y la presencia de animales domésticos.

El 18% de los integrantes del grupo A, el 14% del B, el 0% del C y el 16% del D ($p=0,0502$), trataban el agua destinada para la bebida con dos gotas de extracto de agua de lavandina por litro.

No se pudieron procesar estadísticamente, los ítems de la encuesta referidos al tipo de trabajo de los padres y a los ingresos mensuales totales de la familia, debido a que la mayoría de los entrevistados no respondieron sobre los mismos.

Conclusiones

En las muestras estudiadas, las diferencias relativas existentes entre el grupo control y el resto de los grupos estudiados permitirían inferir que existe un alto riesgo de infección con protozoos intestinales cuando se consume agua contaminada de origen subterráneo que sólo fue clorada antes de su distribución.

Discusión

Se define como agua potable aquella que es adecuada para el consumo humano y para todos los usos domésticos habituales, incluida la higiene personal^(50,51).

Las fuentes de agua deben ser protegidas del contacto con materias fecales, ya que éstas pueden ser portadoras de bacterias, virus, protozoos y helmintos parásitos⁽⁵⁰⁾. La detección de cualquiera de estos agentes en una fuente determinada indicaría que la misma está contaminada con heces y que en ella puede estar presente una multiplicidad de patógenos, además del identificado, de los que habitan en el intestino de los seres humanos y animales⁽⁵⁰⁾.

En el presente trabajo, los resultados obtenidos en el estudio del agua, analizados de acuerdo con las definiciones de calidad que constan en las guías para la calidad del agua potable (OMS, 1995)⁽⁴³⁾ y en la Ley N° 11.220

de la provincia de Santa Fe, permitieron comprobar que existía contaminación bacteriana en algunas perforaciones de los grupos de población A, B y C, pero que dicha contaminación no persistía, luego de la cloración, en ninguno de los tanques de almacenamiento.

También se comprobó, en algunas de dichas perforaciones, la presencia de quistes u ooquistes de protozoos y se identificaron parásitos del mismo tipo, luego de la cloración, en los tanques TB y TC. Mientras que el abastecimiento del grupo D estaba libre de bacterias y protozoos.

Si a lo antes expuesto se agrega el hecho de haberse comprobado diferencias significativas, en cuanto al número de niños parasitados, entre los grupos A, B y C y el grupo D utilizado como control, es posible considerar que existen fundadas sospechas de la participación relevante de la vía hídrica en la transmisión de quistes de protozoos en las tres comunidades abastecidas con agua proveniente de fuentes subterráneas.

Sin embargo, debido a que esta vía no es la única ruta de transmisión posible, algunos resultados merecen ser analizados de manera puntual ya que pueden ser fuente de controversias.

A pesar de que no fue posible constatar la presencia de *Cryptosporidium* en los filtros colocados en TA, es probable que el agua de bebida distribuida desde el mismo haya estado contaminada, ya que los ooquistes fueron identificados en el 21% de las muestras de materia fecal de los niños que residían en ese grupo de población. Esta prevalencia es muy superior a la informada por trabajos realizados a nivel local y nacional, ya que en éstos varía entre 0,10 y 0,80%^(7,52). Por otra parte, ninguna muestra fue positiva para este tipo de protozoos en los grupos B, C y D.

El haber recuperado ooquistes de *Cryptosporidium* de la PA 2, pero no del tanque de distribución, se puede atribuir a la sensibilidad limitada de la técnica de búsqueda, que se basó en la identificación microscópica de los protozoos realizada por un operador bien entrenado. Se debe tener en cuenta que los protozoos se encuentran en muy bajas concentraciones en aguas contaminadas, tanto es así que es necesario filtrar como mínimo 1.000 litros para tener alguna chance de detectarlos⁽³³⁾. En el año en que se realizó este estudio, en nuestro medio no se utilizaban equipos para inmunofluorescencia, que son más sensibles y hubieran facilitado las tareas de identificación⁽⁵³⁾.

Pero aún en el caso de haberlos utilizado, podría haber sucedido que igualmente pasaran desapercibidos, ya que distintos autores coinciden en que la recuperación de quistes, en general, es pobre y está afectada por la cantidad de materiales en suspensión que contenga el agua que se investiga^(53,54).

La identificación de quistes de *Entamoeba coli* y del complejo *E. histolytica-E. dispar*, en dos de las perforaciones y en el tanque del grupo B, indicaban que los mismos estaban contaminados con materia fecal y la cantidad de muestras positivas para protozoos intestinales constatadas en los coproparasitológicos de ese grupo era significativamente diferente de las del grupo control. A pesar de ello, el tipo de protozoos identificados en el abastecimiento de agua, aunque presente en las muestras de materia fecal, no se halló en un porcentaje elevado de las mismas. Se desconocen las causas que intervinieron para que esto sucediera.

En la búsqueda de una explicación se deberían tener en cuenta algunas posibilidades. La sobrevida de los quistes de *E. histolytica* en el agua varía, según la temperatura de la misma, desde algunos días hasta semanas o incluso meses⁽⁵⁵⁾. La técnica utilizada en este trabajo para la identificación de protozoos en el agua no aseguraba que los mismos fueran viables y que, por lo tanto, tuvieran capacidad para infestar huéspedes humanos⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾. Por otra parte es aceptado que la contaminación de las fuentes puede ser intermitente y no necesariamente debe prolongarse en el tiempo⁽¹⁴⁾.

La presencia en los exámenes coproparasitológicos de otros protozoos sensibles al mismo tipo de drogas permitió descartar la posibilidad de que se hubieran aplicado incorrectamente los criterios de exclusión en cuanto a qué tratamientos antiparasitarios muy cercanos al momento del estudio hayan sido responsables de la disminución de las muestras positivas.

Si bien algunos de los entrevistados manifestaron que acostumbraban tratar el agua de bebida con extracto de agua de lavandina, debe tenerse presente que la concentración utilizada, si bien es efectiva para eliminar bacterias vegetativas, no es suficiente para destruir quistes de protozoos⁽³⁰⁻³²⁾.

A pesar de la cercanía física que existía entre las distintas perforaciones que abastecían a cada tanque de almacenamiento, sólo algunas de ellas estaban contaminadas. Esto sugeriría que si se comprobara contaminación en algún pozo, ésta no sería razón suficiente para descartar a otros cercanos sin haber realizado estudios previos.

La OMS señala que es más importante elegir correctamente el lugar donde se hará una perforación, protegiendo luego a la fuente subterránea de la contaminación, que el tratamiento posterior del agua de ella obtenida⁽⁵⁹⁾, ya que una vez liberado el servicio destinado a una comunidad sería necesario eliminar el pozo en cuestión si se comprobara contaminación fecal en alguna de las perforaciones. Si eso no fuera posible, además de tratar el agua con cloro, habría que someterla a procesos de fil-

tración para reducir a niveles insignificantes el riesgo de transmitir, a través de ella, quistes de parásitos intestinales⁽⁶⁰⁾.

Agradecimientos

Se agradece a todos los profesionales y estudiantes de bioquímica e integrantes del Departamento de Matemática (Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL) que participaron en las distintas etapas de la ejecución de este trabajo.

Summary

Introduction: the objective of the study was to investigate a possible association between the consumption of water obtained from underground sources, which was only subjected to chlorination, and the presence of intestinal protozoa in a pediatric population.

Population: four groups of children, aged four months to twelve years, which shared similar socio-economic and sanitary conditions were studied. Three of the groups: A (n=34), B (n=36) and C (n=45) drank underground water which only underwent chlorination prior to its distribution. The fourth group D (n=34), which is the control group, drank water from a superficial source which was subjected to a complete conventional potabilization treatment.

Materials and methods: the drinking water used by each group was analyzed to study its physicochemical, bacteriological and parasitological characteristics, and microscopic examination of the stools in search of protozoan cysts was serially performed on the selected children. A survey of the parents was also carried out.

Results: bacteria and protozoan cysts were found in some of the perforations and water-tanks that supplied the children of groups A, B and C. The contamination of stools was: A: 47%; B: 41%, C: 67% and D: 12%. A significant difference was obtained between A-D ($p=0,0039$; OR 5,16 [1,43 - 19,65]), B-D ($p=0,012$; OR 4,14 [1,13 - 15,62]) and C-D ($p=10^{-5}$; OR 11,60 [3,35 - 42,88]). According to the results of the survey, the four groups shared similar socio-economic and sanitary condition.

Conclusion: the significant difference between the control group and the other groups of children indicate there is a high risk of infection with intestinal protozoa exists when children drink water contaminated from underground sources which undergoes chlorination as the single potabilization procedure prior to its distribution.

Key words

GROUNDWATER POLLUTION
INTESTINAL DISEASES, PARASITIC

Bibliografía

1. **World Health Organization.** Scientific Working Group. Parasitic-related diarrhoeas. Bull WHO 1980; 58: 819-30.
2. **Guerrant RL, Bobak DA.** Bacterial and protozoal gastroenteritis. N Engl J Med 1991; 325: 327-40.
3. **Knight R.** Epidemiology and transmission of giardiasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 1980; 74: 433-36.
4. **Casemore DP.** Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. Epidemiol Infect 1990; 104: 1-28.
5. **Walsh JA.** Prevalence of *Entamoeba histolytica* infection. In: Ravdin JI, ed. Amebiasis: Human Infection by *Entamoeba histolytica*. New York: Churchill Livingstone, 1988: 93-105.
6. **Basualdo JA, Coto CE, de Torres RA.** Microbiología Biomédica. Buenos Aires: México, 1996; 915-21.
7. **Saredi N, Lamy P, Ortellao G, Bazán V, Hascalovici C, Momeso T, et al.** Estudio epidemiológico de la incidencia de parasitosis en la población concurrente a un hospital pediátrico. 30° Cong. Arg. de Pediatría, Santa Fe 1994; N° 306:172 [abstract].
8. **Beltramino M, Rugieri JL, Villa BN.** Prevalencia de enteroparasitosis en una población pediátrica de consultorios externos privados, de las ciudades de Reconquista y Avellaneda. Rev Med de Santa Fe 1989; 22 2): 52-6.
9. **Wagener M, Nóboli C, Drago S, et al.** Prevalencia de enteroparasitosis en una población infantil del área programática del Hosp. de Niños de Santa Fe. 30° Cong. Arg. de Pediatría, Santa Fe 1994; N° 296:167 [abstract].
10. **Latini OA, Sequeira de Latini MD, Bossio JC, Costantini O, et al.** Prevalencia de parasitosis en dos barrios marginales de la ciudad de Santa Fe (Informe personal de los autores). Instituto Nac. de Epidemiología "Emilio Coni", Santa Fe 1985.
11. **Beltramino JC, Villagra A, Woscoff D, et al.** Investigación de parásitos en lactantes con diarrea. Arch Argent Pediatr 1984; 82: 373-81.
12. **Beltramino D, Lurá de Calafell MC, Turi de Morel J.** Amebiasis intestinal "invasora" en pacientes pediátricos de la ciudad de Santa Fe. Arch Argent Pediatr 1991; 89: 202-8.
13. WHO/PAHO. Informal consultation of intestinal protozoal infections. México, 1991: 10-4.
14. **Organización Panamericana de la Salud.** Simposio regional sobre calidad del agua. Buenos Aires, octubre de 1994.
15. **Tzipori S.** Cryptosporidiosis in animals and humans. Microbiol Rev 1983; 47: 84-96.
16. **Current WL, Reese NC, Ernst JV, Bailey WS, Heyman MB, Weinstein WM.** Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons: Studies of an outbreak and experimental transmission. N Engl J Med 1983; 21: 1252-7.
17. **Walsh JA.** Transmission of *Entamoeba histolytica* infection. In: Ravdin JI, ed. Amebiasis: Human Infection by *Entamoeba histolytica*. New York: Churchill Livingstone, 1988: 106-19.
18. **Craun GB, Mc Cabe LJ.** Waterborne disease outbreaks in the U.S. 1971-74. JAWWA 1976; 68(8):420-4.
19. **Kirner JC, Littler JD, Angelo LA.** Waterborne outbreak of giardiasis in Camas, Wash. JAWWA 1978; 70(1): 35-40.
20. **Lippy E.** Tracing a giardiasis outbreak at Berlin, N. Hamp. JAWWA 1978; 70(9): 512-9.
21. **Roach PD, Olson ME, Whitley G, Wallis PM.** Waterborne *Giardia* and *Cryptosporidium* oocysts in the Yukon, Canada. Appl Environ Microbiol 1993; 59(1): 67-73.
22. **Moore AC, Herwaldt B, Carun GF, Calderón R.** Waterborne disease outbreaks in the U.S. 1991-92. JAWWA 1994; 84(2): 87-9.
23. **Joseph C, Hamilton G, O'Connor S, Nicholas S, Marshall R.** Cryptosporidiosis in the Isle of Thanet; an outbreak associated with local drinking water. Epid Infect 1991; 107: 509-19.
24. **LeChevalier MW, Noton WD, Lee RG.** Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp in surface water supplies. Appl Environ Microbiol 1991; 57(9): 2610-6.
25. **Ongerth JE, Stibbs HH.** Identification of *Cryptosporidium* oocysts in river water. Appl Environ Microbiol 1987; 4: 672-676.
26. **Rose JB.** Occurrence and significance of *Cryptosporidium* in water. JAWWA 1988; Research and Technology: 53-58.
27. **Abramovich B, Lurá de Calafell MC, Haye MA, Argañaraz F, et al.** Detección de *Cryptosporidium* en aguas de consumo de origen subterráneo. Rev Arg Microbiol 1996; 28: 73-6.
28. **Le Maistre CA, Sappenfield R, Culbertson C, Carter FRN, et al.** Studies of water-borne outbreak of amebiasis, South Bend, Indiana. Epidemiological aspects. Am J Hyg 1956; 64: 30-45.
29. **Walzer PD, Judson FN, Murphy KB, Healy GR, English DK, Schultz MG.** Balantidiasis outbreak in Truk. Am J Trop Med Hyg 1973; 22: 33-41.
30. **DuPont HL, Chappell CL, Sterling CR, Okhuysen PC, Rose JB, Jakubowski W.** The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. N Engl J Med 1995; 332: 885-9.
31. **Feldman RE, Guardis M del V, Gariboglio MA.** Detección de quistes de *Giardia lamblia* en agua. Acta Bioq Latinoam 1991; 25: 151-9.
32. **Haas CN.** Estimation of risk due to low doses of microorganisms: a comparison of alternative methodologies. A J Epidemiol 1983; 118: 573-82.
33. **Jaykus LA.** Epidemiology and detection as options for control of viral and parasitic foodborne disease. Emerg Infect Dis 1997; 3(4): 529-39.
34. **Bojanich Marcovich E.** Hidrología urbana en llanuras loésicas. III Jornadas Pampeanas de Ciencias Naturales, Santa Rosa 1987; 137-49 [abstract].
35. **Feldman RE.** Contaminación parasitaria del agua. Problema del saneamiento y depuración de las aguas cloacales, con relación a los parásitos (abstract). Jornadas de Actualización en Hidrología Subterránea 1986; Doc. N° 1670.
36. **Abramovich BL, Vigil JB, Calafell MC, et al.** Estudio microbiológico de aguas de bebida. Aliment Latinoam 1994; 203: 78-82.
37. **Bojanich E, Risiga AH, Fili MF.** Características geohidrológicas de los acuíferos de un sector de la llanura chaco-pampeana. Hidrología de las grandes llanuras. Actas del Coloquio de Olavarría, 1983; Tomo III: 1241-71.
38. **Fili M, Tujchneider OC.** Características geohidrológicas del subsuelo de la Provincia de Santa Fe-Argentina. Rev Asoc Ciencias Naturales del Litoral 1977; N° 8: 105-13.
39. **Sacket D, Haynes B, Guyatt G, Tugwell P.** Epidemiología clínica. 2ª ed. Buenos Aires: Panamericana, 1991: 188-90.
40. **Harris E.** On P Values and confidence intervals. Clin Chem 1993; 39: 927-8.

41. **Henderson R.** Chemistry with confidence: Should clinical chemistry require confidence intervals for analytical and other data. *Clin Chem* 1997; 39: 929-34.
42. APHA-AWWA-WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. Washington: American Public Health Association, 1992.
43. **Organización Mundial de la Salud.** Guías para la calidad del agua potable. 2ª ed. Ginebra: OMS, 1995; 1: 179.
44. **Taranto NS.** Coloración húmeda para exámenes coproparasitológicos en fresco. *Notiwiener Rott* 1984; 13: 62.
45. **Fleiss JL.** Statistical methods for rates and proportions. New York: John Wiley & Sons, 1981: 75.
46. **Cox DR.** Planning of experiments. New York: John Wiley & Sons, 1958: 4-5.
47. **Hogue C, Rubin G, Schul K.** An introduction to epidemiological methods. In: Krelly M. Reproductive and perinatal epidemiology. Boston: CRS Press Inc, 1991: 3.
48. **Greenland S, Robins J.** Estimation of a common effect parameter from sparse follow-up data. *Biometrics* 1985; 41: 55-67.
49. **Breslow NE.** Statistics in Epidemiology: The case-control study. (JASA) *Journal of the American Statistical Association* 1996; 91 (431): 14-28.
50. **Organización Mundial de la Salud.** Guías para la calidad del agua potable. 2ª ed. Ginebra: OMS, 1995; 1: 1-4.
51. Código Alimentario Argentino. Artículo 982: 461.
52. **Lurá MC, Nepote M, Beltramino D.** Prevalencia de enteroparásitos entre la población que concurrió espontáneamente al Hospital Iturraspe durante 1994. Taller sobre Epidemiología de las Enteroparasitosis en la Argentina. *Cong Arg de Microbiología*, Buenos Aires 1995.
53. **LeChevallier MW, Norton WD, Siegel JD, Abbaszadegan M.** Evaluation of the immunofluorescence procedure for detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in water. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61: 690-7.
54. **Niemiski EC, Schaefer III FW, Ongerth JE.** Comparison of two methods for the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* oocysts in water. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61: 1714-9.
55. **Feachem RG, Bradley DJ, Garelik H, Mara DD.** Sanitation and disease. Health aspects of excreta and wastewater management. Wiley/World Bank, Chichester 1983; 337-47.
56. **Campbell AT, Robertson LJ, Smith HV.** Viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts: correlation of in vitro excystation with inclusion/exclusion of fluorogenic vital dyes. *Appl Environ Microbiol* 1992; 58: 3488-93.
57. **Sauch JF, Flanigan D, Galvin ML, Berman D, Jakubowski W.** Propidium iodide as an indicator of *Giardia* cyst viability. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57: 3243-7.
58. **Schupp DG, Erlandsen SL.** A new method to determine *Giardia* cyst viability: correlation of fluorescein diacetate and propidium iodide staining with animal infectivity. *Appl Environ Microbiol* 1987; 53: 704-7.
59. **Organización Mundial de la Salud.** Guías para la calidad del agua potable. 2ª ed., Ginebra: OMS, 1995; 1: 138.
60. **Organización Mundial de la Salud.** Guías para la calidad del agua potable. 2ª ed., Ginebra: OMS, 1995; 1: 25.

Correspondencia: Dr. Daniel Beltramino. Sarmiento 3769. (3000) Santa Fe, Argentina.

Los artículos publicados en Archivos de Pediatría del Uruguay pueden ser reproducidos en las respectivas Revistas Científicas de las Sociedades de Pediatría del Cono Sur cuyos integrantes son, además de Uruguay, Argentina, Chile, Bolivia, Paraguay y Brasil, autorizándose a esta última la traducción al portugués. Solo se requiere comunicarlo por escrito al Director de Archivos de Pediatría.
